香石竹 *DcSKP1* 基因克隆及表达分析

周旭红[1,2]，赵雪艳[3]，杨晓密[2]，吴学尉[3]，瞿素萍[1*]

(1. 云南省农业科学院 花卉研究所，昆明 650205；2. 云南中医药大学 科技处，昆明 650500；3. 云南大学 农学院，昆明 650500）

摘要: *SKP1* 基因是 SCF E3 泛素连接酶蛋白复合物的核心成分，参与多种生物过程。然而，香石竹 *SKP1* 基因还未被克隆，该文利用 RT-PCR 结合 RACE 技术，从香石竹（*Dianthus caryophyllus*）的花药中分离克隆了 1 个减数分裂相关基因 *SKP1* 的全长 cDNA 序列，命名为 *DcSKP1*（GenBank 登录号为 MK931293）。结果表明：*DcSKP1* 基因 cDNA 全长序列为 962 bp，含有 1 个长度为 567 bp 的 ORF，该基因编码 188 个氨基酸；蛋白序列比对显示，*DcSKP1* 中存在一个高度保守 TPEE 基序，还具有 Skp1_POZ 结构域和 Skp1 结构域，并与拟南芥的 *SKP1* 聚集在一个分支上；利用荧光定量 PCR 对香石竹 *DcSKP1* 基因表达模式进行研究，发现 *DcSKP1* 基因在各个组织部位都有表达，在花药中的表达量高于茎叶组织，且在幼小的花药中表达量最高，随着花药发育的进程表达量下降。研究推测，*DcSKP1* 基因可能在香石竹减数分裂中起重要作用。

关键词: 香石竹，*DcSKP1*，减数分裂，生物信息学分析，基因表达分析

中图分类号：Q943　　　　　　**文献标识码**：A

Clone and expression analysis of *DcSKP1* in *Dianthus caryophyllus*

ZHOU Xuhong[1,2], ZHAO Xueyan[3], YANG Xiaomi[2], WU Xuewei[3], QU Suping[1*]

(1. *Flower Research Institute*, *Yunnan Academy of Agricultural Sciences*, Kunming 650205, China; 2. *Yunnan University of Chinese Medicine*, *Science and Technology Department*, Kunming 650500, China; 3. *School of Agriculture Yunnan University*, Kunming 650500, China)

Abstract: *SKP1* gene is the core component of the SCF (Cul1-Rbx1-Skp1-F box) E3 ubiquitin ligase protein complex and is involved in many different biological processes. However, the *SKP1* gene of carnation has not been cloned. In this study, a new *DcSKP1* gene (the accession number in GenBank was MK931293) was isolated from the flower of *Dianthus caryophyllus* by using RT-PCR and RACE approaches. The results were as follows: The full length cDNA sequence of *DcSKP1* was 962 bp, and the ORF of 567 bp encoded 188 amino acids; Protein sequence alignment showed that *DcSKP1* had a highly conserved TPEE motif, Skp1_POZ domain and Skp1 domain, and clustered on a branch with *Arabidopsis thaliana Skp1*; The *DcSKP1* gene expression pattern of *Dianthus caryophyllus* was studied by real time qRT-PCR, and it was found that the *DcSKP1* gene was expressed in all tissue sites, and the expression level in anthers was higher than

基金项目：国家自然科学基金（31860570）；云南省万人计划青年拨尖人才项目（YNWR-QNBJ-2018-389）；教育部部省合建重点项目（2018BSHJ0108） [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31860570); Young Talents Project of Yunnan Ten Thousand Plan (YNWR-QNBJ-2018-389); Emphasis Project of Education Ministry and Provincial Cooperation (2018BSHJ0108)]。

作者简介：周旭红(1978-)，女，湖南祁阳人，博士，研究员，主要从事花卉遗传育种研究，（E-mail） zhouxuhong7801@126.com。

*通信作者：瞿素萍，硕士，研究员，研究方向为花卉标准制定，（E-mail）1035496319@qq.com。

that in stem and leaf tissues, and the expression level was the highest in young anthers, and the expression level decreased with the development of anthers. It is speculated that *DcSKP1* gene may play an important role in carnation meiosis.

Keywords: *Dianthus caryophyll*us, *DcSKP1*, meiosis, bioinformatics analysis, gene expression analysis

许多细胞事件，如信号转导、细胞周期调节和转录的机制主要由泛素介导的蛋白降解所调控 (Hershko &Ciechanover, 1998；Ning et al., 2016)。泛素化是一个三酶级联的过程，首先泛素被泛素激活酶（E1）激活，然后转移到泛素结合酶（E2）上，在泛素连接酶（E3）的帮助下与底物蛋白的赖氨酸残基结合，赋予底物特异性 (刘卫霞等，2002)。多个泛素分子可以附着在蛋白底物上已有的泛素分子上形成多泛素链，多泛素化的蛋白通常被 26S 蛋白酶体降解。SCF 复合物形成已知最大的 E3 泛素蛋白连接酶 (Schulman et al., 2000)，SCFs 参与关键蛋白的泛素化，控制细胞周期进展和转录控制等基本生物学过程 (孙新艳等, 2017)。拟南芥 *SKP1- like - 1* (*ASK1*)，编码连接 Cullin 和 F-box 蛋白的 SCF 亚基 (Yang et al., 1999)。已有研究表明，ASK1 可以与 F-box 蛋白相互作用 (Takahashi et al., 2004)，由于这些 F-box 蛋白在不同的通路中发挥着重要的作用 (郑鸿平和李逸平，2011)，*ASK1* 作为 SCFs 中的关键成分，在拟南芥中广泛地表达，在许多发育和生理过程中可能具有重要的功能 (Lu et al., 2016; 叶佑丕，2014)。拟南芥 *ask1* 突变体在雄性减数分裂、花器官发育和营养生长方面存在缺陷 (Zhao et al., 2001; Zhao et al., 2006; Zhao et al., 2015)。*ask1-1* 最早检测到的缺陷发生在细线期到偶线期的转化过程中，核仁未能迁移到核外周，同源染色体不发生联会 (Wang et al., 2004)，*ASK1-1* 突变也导致拟南芥雄性减数分裂中重组频率的增加 (Wang & Yang, 2006)和雄性不育(Yang et al., 1999)。

香石竹是四大鲜切花之一，具有较高的产量和产值。香石竹目前的育种主要还是采用传统的杂交育种，包括种间杂交和种内杂交育种方式；自然芽变或是采用辐射来诱导芽变也是香石竹育种方法之一；此外，也会利用转基因技术的方法来培育蓝色香石竹 (Fukui et al., 2003)及抗衰老 (余义勋和包满珠, 2004)、抗枯萎病 (胡忠亮等, 2018)和耐热 (吴姗姗, 2014) 等品系。但有关调控参与香石竹减数分裂的基因来创制优异香石竹品种的研究较少，这极大的阻碍了香石竹育种的进程。*SKP1* 基因可调控花器官发育和减数分裂，但香石竹 *SKP1* 基因还未被克隆。本研究通过克隆香石竹 *SKP1* 基因，研究其在花药和茎叶的表达模式，为深入了解香石竹花发育的分子机制及运用于香石竹育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

所用香石竹（*Dianthus caryophyllus*）‘罗加特’采集地点为云南集创园艺科技有限公司宝峰基地。2018 年 9 月采集香石竹茎、叶组织和不同发育时期的花蕾，并用镊子取出幼嫩的花药，液氮速冻后置于-80 ℃冰箱保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 *DcSKP1* 基因克隆与生物信息学分析

取-80 ℃冰箱保存的香石竹花药，加入磁珠，放入全自动样品快速研磨机中，研磨 60s。迅速倒出磁珠，快速加入 1mL Trizol 试剂（Invitrogen 美国）于离心管中，RNA 提取按 Trizol 试剂盒的说明书进行操作。合成 cDNA 第一链使用 Takara 公司的 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒，按试剂盒的说明书进行操作。特异的引物根据已公布的香石竹基因组序列（http://carnation.kazusa.or.jp/blast.html）进行设计，先扩增中间片断，再跟据中间片断的序列设计 3′- RACE 和 5′- RACE 引物，按照 SMARTer® RACE 5′/3′Kit（Takara 日本）试剂盒的操作扩增 3′- RACE 和 5′- RACE cDNA 序列，最后再设计全长引物，扩增全

长 cDNA 序列。引物序列如表 1。

使用 NCBI 网站（http://www. ncbi. nlm. nih.gov/BLAST）比对分析目的基因的同源序列，该基因及其他物种 *SKP1* 基因的氨基酸相似性比对分析用 DNAMEN 软件，并使用 MEGA 6.0 软件画系统进化树。蛋白的分子量和理论等电点预测采用 ExPASy ProtParam 分析，蛋白的亚细胞定位在线预测用 PSORTII 分析，蛋白的信号肽预测用 Signal P 4.1 分析，磷酸化位点预测采用 Net Phos 2.0 分析，蛋白跨膜结构预测用 TMHMM 2.0 分析，蛋白亲水性预测用 Protscale 软件分析。

1.2.2 *DcSKP1* 基因的表达分析

选取长度为 1.1～1.2 cm 的花蕾、1.3～1.4 cm 的花蕾和 1.5～1.6 cm 的花蕾，取出花药，以及叶和茎的组织各三份，放入液氮中速冻。提取 RNA 并逆转录为 cDNA，cDNA 稀释 10 倍保存在-20 ℃的冰箱中备用，作为荧光定量 PCR 模板。GAPDH 为内参基因，引物为 GAPDH 579-F 和 GAPDH 788-R，*DcSKP1* 引物为 Dca36455-1153F 和 Dca36455-1265R（表 1）。做三次生物学和实验重复，采用 SPSS 12.0 软件分析数据并作图。

表 1 香石竹 *DcSKP1* 基因 cDNA 克隆和表达分析引物

Table 1 Primers used for *DcSKP1* cDNA cloning and expression analysis

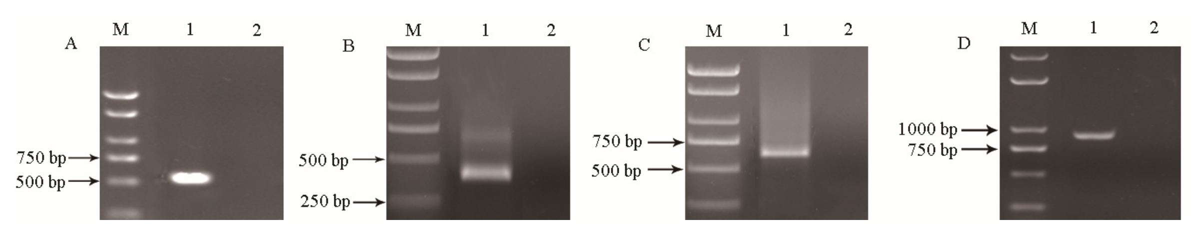
用途 Description		引物名称 Primer name	引物序列(5′-3′) Primer sequence (5′-3′)
中间片断 Intermediate fragment		SKP1-34F SKP1-1601R	TGGGATAAGGAATTTCTTGAAG GAACTTGAATCAAAGCGGAAGAA
3′-RACE	第一轮 The first round	SKP1-101F	AAACTGTCGCAGACATGATGAGAGGGAA
	第二轮 The second round	SKP1-165F	TAACGAATACACCGAGGAGGAAGAAGCG
5′-RACE	第一轮 The first round	SKP1-645R	TCTTGATCTCCGCTTCTTCCTCCTCG
	第二轮 The second round	SKP1-587R	TGATCTCATCTGGGGTCTTCCCTCTCA
ORF 扩增 Amplification of ORF		Skp1-9F Skp1-929R	ACAACTTCTCACACCCAAAAA TCAAATGAACTTGAATCAAAGC
qRT-PCR		Dca36455-1153F	GCCTGCTGGACTTGACCTG
		Dca36455-1265R	CGCTTCTTCCTCCTCGGTGTA
		GAPDH 579-F	CAGTGGGCACACGGAAAGC
		GAPDH 788-R	TGGCATCGTTGAGGGTCT

2 结果与分析

2.1 克隆 *DcSKP1* 基因全长 cDNA 序列

以提取的香石竹花药 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。首先扩增中间片断，通过 3′-RACE 与 5′-RACE 技术扩增 DcSKP1 基因 3′端和 5′端序列，根据拼接后的 cDNA 全长序列设计引物扩增包括完整 ORF 在内的 *DcSKP1* 基因全长 cDNA 序列，扩增的产物见图 1。*DcSKP1* 基因中间片段扩增测序得到了 500 bp 的序列（图 1：A），*DcSKP1* 基因 5′端和 3′端序列测序后得到了长度分别为 376（图 1：B）和 567 bp（图 1：C）序列，将以上克隆得到的 3 段序列拼接后得到一个长度为 962 bp 的 *DcSKP1* 全长 cDNA 序列。再设计引物扩增 cDNA 全长包括完整 ORF 在内的 921 bp 的序列（图 1：D），该序列与拼接后序列的碱基完全一致。克隆结果表明，*DcSKP1* 基因 cDNA 全长序列为 962 bp，含有 1 个长度为 567 bp 的 ORF，该

基因编码 188 个氨基酸，命名为 *DcSKP1*（GenBank 登录号 MK931293）。



A. 中间片断 PCR 产物； **B**. 5′-RACE PCR 产物；**C**. 3′-RACE PCR 产物；**D**. 全长 PCR 产物。**M**. Marker; **1**,**2**. 泳道。

A. PCR products of middle sequence；**B**. 5′-RACE-products；**C**. 3′ RAC'E-products；**D**. Full-length PCR product. **M**. Marker; **1**,**2**. Lane.

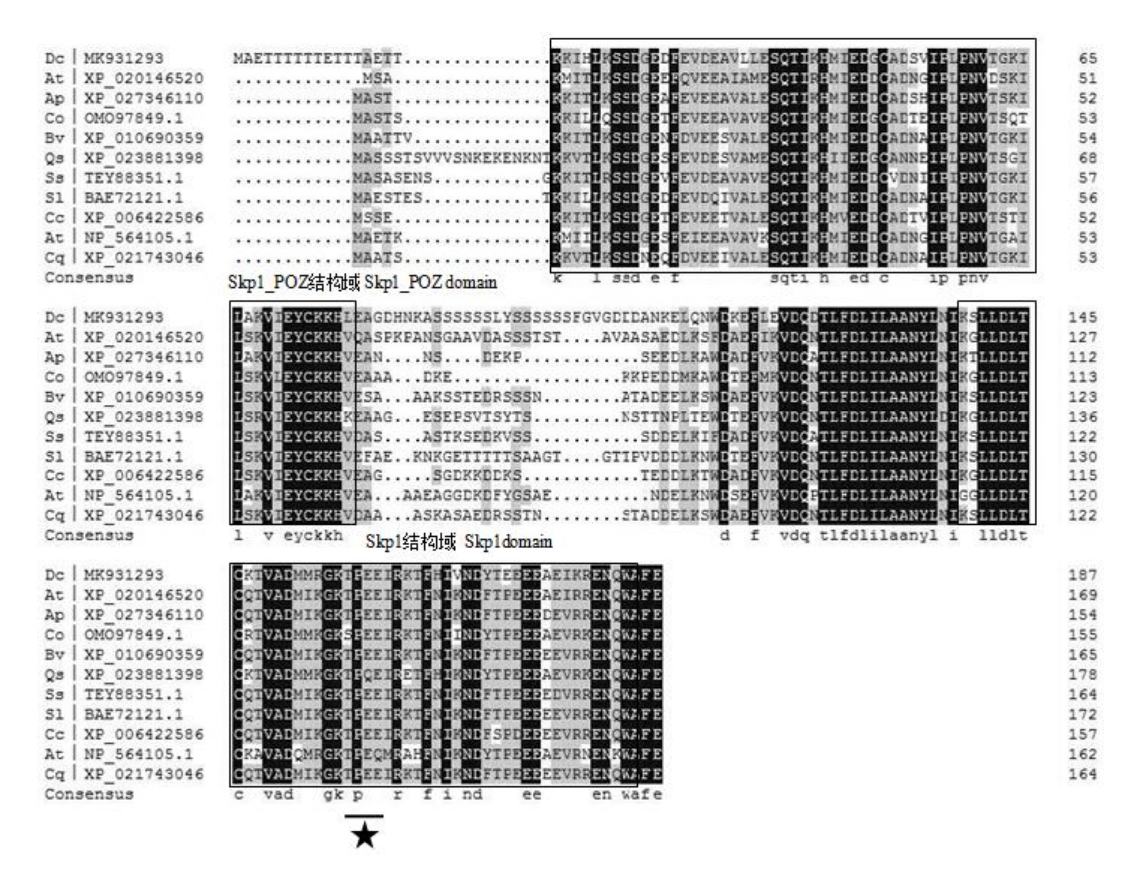
图 1 *DcSKP1* 基因中间序列、RACE 和全长 cDNA 序列扩增

Fig. 1 Amplication of the middle sequence, RACE products and full length of *DcSKP1* cDNA

2.2　*DcSKP1* 氨基酸序列比对及进化分析

利用 DNAMAN 软件比对分析多个不同物种 *Skp1* 基因编码的氨基酸序列，发现 *DcSKP1* 基因存在一个高度保守 TPEE 基序（157~160 氨基酸），基序很可能与糖基化翻译后修饰有关。该香石竹蛋白质还具有 Skp1_POZ 结构域（18~77 氨基酸）和 Skp1 结构域（139~186 氨基酸）（图 2）。SKP1 蛋白可分为两种类型的蛋白和三种类型的基因 (Kong et al., 2010)。I 型蛋白由 Ia 型和 Ib 型基因编码，具有两个保守区域（Skp1_POZ 和 Skp1）和两个可变区域。II 型蛋白由 II 型基因编码，与 I 型蛋白有很大不同。II 型蛋白含有一个额外的 c 端区域。Ia 型基因包含单个内含子，而 Ib 型基因不包含任何内含子。II 型基因在多个位置有多个内含子 (Min et al., 2012)。本研究分离的 *DcSKP1* 基因包含一个内含子，归为 I 型蛋白和 Ia 型基因。

采用最大似然法（maximum likelihood，ML）将其他物种的 *SKP1* 基因与香石竹 *DcSKP1* 氨基酸序列进行比对，建立系统进化树，结果显示其与拟南芥的 *SKP1* 聚集在一个分支上（图 3），表明这两个基因的同源性最高。



Dc. 香石竹；**At**. 山羊草；**Ap**. 相思豆；**Co**. 黄麻；**Bv**. 甜菜；**Qs**. 栓皮栎树；**Ss**. 一串红；**Sl**. 蝇子草；**Cc**. 柑橘；**At**. 拟南芥；**Cq**. 藜麦。星号表示 TPEE 基序。

Dc. *Dianthus caryophyllus*; **Co**. Corchorus olitorius; **At**. *Aegilops tauschii*; **Ap**. *Abrus precatorius*; **Bv**. *Beta vulgaris*; **Qs**. Quercus suber; **Ss**. *Salvia splendens*; **Sl**. *Silene latifolia*; **Cc**. *Citrus clementina*; **At**. *Arabidopsis thaliana*; **Cq**. *Chenopodium quinoa*. The asterisk indicates the TPEE motif.

图 2 植物 *Skp1* 氨基酸序列的比对

Fig. 2 Alignment of plant *Skp1* amino acid sequences

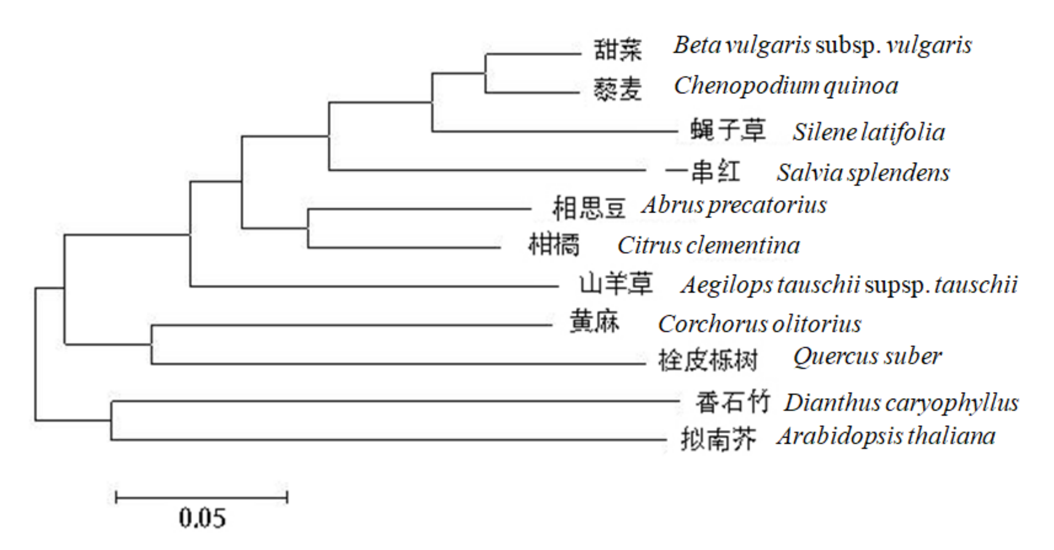


图3 Skp1蛋白的系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of plant Skp1 proteins

2.3 香石竹 DcSKP1 生物信息学分析

对 *DcSKP1* 进行氨基酸组成成分及理化性质分析，DcSKP1 的分子式为 $C_{913}H_{1443}N_{237}O_{317}S_7$，理论等电位 4.52，分子量为 21 036.32 Da。该蛋白正电荷残基为 19，负电荷残基为 38，预测不稳定指数为 47.83，为不稳定蛋白。香石竹 DcSKP1 氨基酸组成中主要为 Glu 和 Leu，其中 Glu 所占比例约为 11.7%，Thr 所占比例约为 10.1%。预测 DcSKP1 蛋白的亚细胞定位可能 52.2 %在细胞核中，26.1 %在细胞质中，4.3 %在高尔基体，4.3 % 在细胞骨架，4.3 % 在过氧化物酶体，4.3 % 在质膜和 4.3 % 在线粒体中。Dcskp1 蛋白的信号肽无峰值出现（图 4），说明 DcSKP1 蛋白不存在信号肽，也说明该蛋白不属于分泌蛋白。蛋白跨膜结构预测 DcSKP1 没有跨膜螺旋，说明 DcSKP1 是一个非跨膜蛋白。预测磷酸化位点发现在该蛋白质序列中可能含有 48 个磷酸化位点（score>0.5），包含 16 个丝氨酸位点，12 个苏氨酸位点和 1 个酪氨酸位点（图 5）。蛋白质疏水性和亲水性预测，该蛋白是最可能是亲水性蛋白（MIN：-2.489，MAX：2.011）（图 6）。

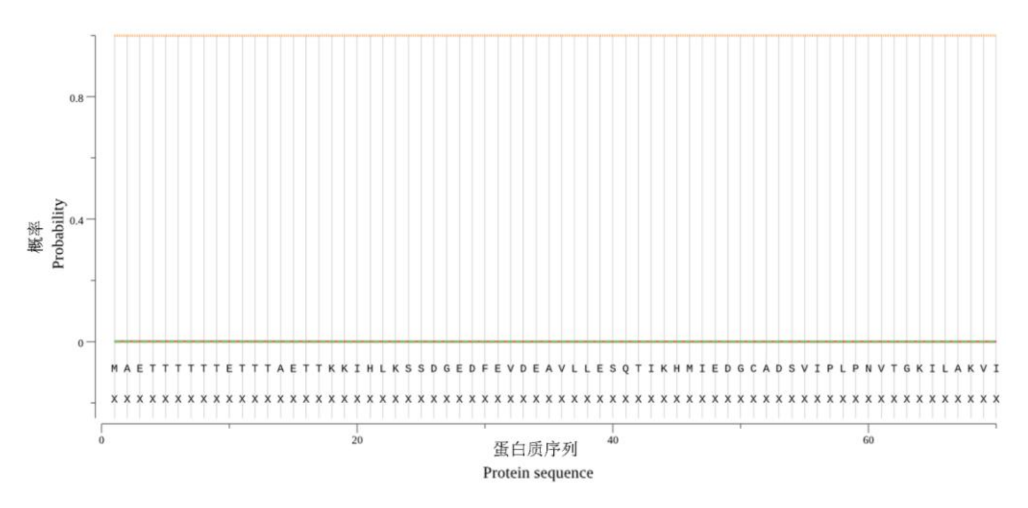


图 4 DcSKP1 信号肽预测

Fig. 4 Prediction of signal peptides in DcSKP1

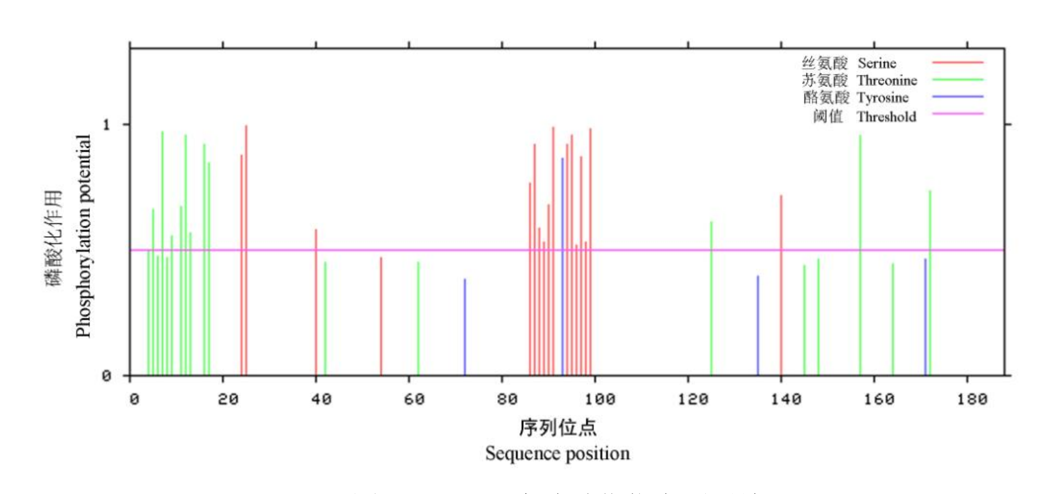


图 5 DcSKP1 中磷酸化位点预测结果

Fig. 5 Results of phosphorylation sites prediction in DcSKP1

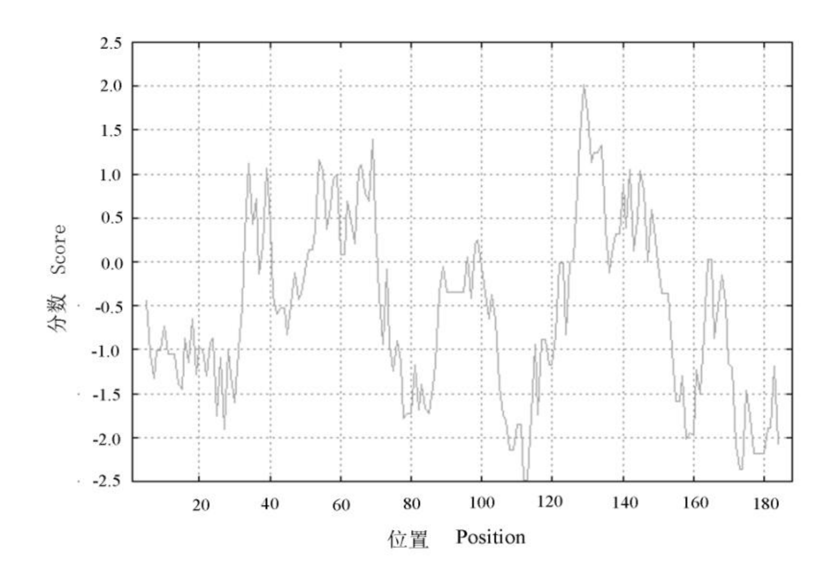
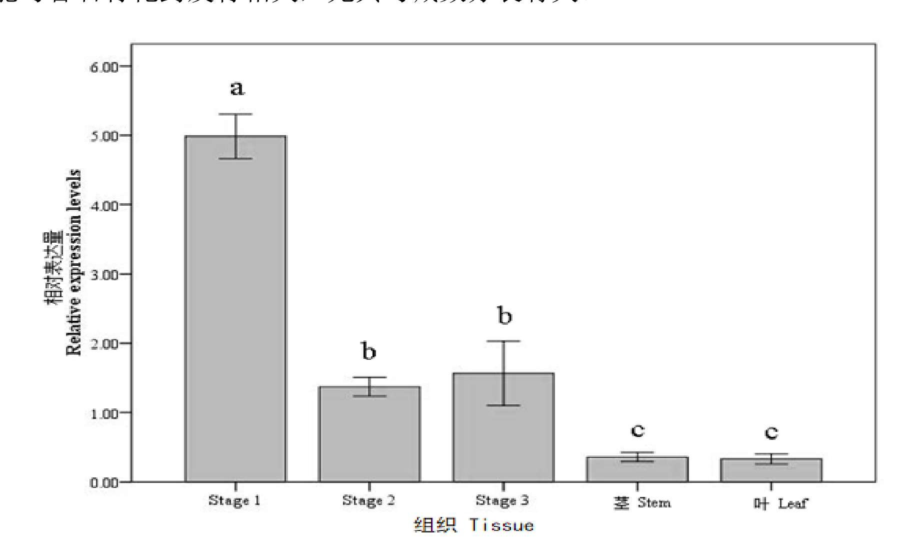


图 6 DcSKP1 蛋白亲疏水性分析

Fig.6 Analysis of hydrophilcity and hydrophobicity of DcSKP1

2.4 *DcSKP1* 基因的荧光定量表达分析

荧光定量 PCR 结果显示，*DcSKP1* 基因在香石竹花药 3 个不同发育时期均有表达，但表达趋势逐渐下降，花蕾长度为 1.1～1.2 cm（Stage 1）时的花药表达量最高，花蕾长度为 1.3～1.6 cm（Stage 2 和 Stage 3）时期的花药表达量低，且 Stage 1 与 Stage 2 和 Stage 3 有显著差异，而在茎和叶中表达量更低，与花药中的表达量有显著差异（图 7）。由此可见，*DcSKP1* 基因可能与香石竹花药发育相关，尤其与减数分裂有关。



Stage 1. 花蕾长度为 1.1～1.2 cm 的花药；**Stage 2**. 花蕾长度为 1.3～1.4 cm 的花药；**Stage 3**. 花蕾长度为 1.5～1.6 cm 的花药。不同字母表示显著差异（P<0.05）。

Stage 1. Anthers with a flower bud length of 1.1-1.2 cm; **Stage 2**. Anthers with a flower bud length of 1.3-1.4 cm; **Stage 3**. Anthers with a flower bud length of 1.5-1.6 cm. Different letters indicate significant differences (P<0.05).

图 7 *DcSKP1* RT-qPCR 表达分析

Fig.7 *DcSKP1* RT-qPCR expression analysis

3 讨论

SCF 能参与一系列的生物学反应，包括信号转导、转录和细胞周期调控 (宋瑜龙, 2011;

孙新艳等, 2017)。SCF 复合物在酵母系统中被发现，并且在细胞周期底物泛素化降解过程中发挥重要作用 (Feldman et al., 1997)。SCF 复合物由三个亚基组成：Cullin（CDC53），SKP1 和 F-box 蛋白，SKP1 是 SCF E3 泛素连接酶蛋白复合物的核心成分，参与多种生物过程。在这个复合物中，SKP1 是一种连接蛋白，与 Cullin 和 F-box 蛋白结合。SKP1 可以与许多 F-box 蛋白相互作用，泛素化不同的底物特异性因子 (Vierstra & Smalle, 2004)。烟草 *SKP1* 基因具有 Skp1 结构域 (张付云等, 2007; 夏江宏等, 2015)，亚细胞定位发现 NtSKP1 蛋白在胞浆和核部位均有表达 (张付云等, 2009)。香石竹 *DcSKP1* 基因存在 Skp1_POZ 结构域和 Skp1 结构域，还具有一个高度保守 TPEE 基序，很可能与糖基化的翻译后修饰有关，香石竹 *DcSKP1* 基因通过软件预测主要定位于细胞核。

拟南芥 *SKP1*（*atk1-1*）突变体的雄性育性降低，有活力的花粉粒减少，雄配子减数分裂异常。*atk1-1* 突变体中的雄性减数分裂产生反常数量的不同大小的小孢子，减数分裂纺锤体缺乏正常纺锤体的双极结构，这种异常的纺锤体可能是染色体异常分离和随后的孢子和花粉异常的原因，*atk1-1* 染色体在中期 I 中不正确排列也可能与异常的纺锤体有关 (Chen et al., 2002)。此外，*ASK1* 还抑制花粉减数分裂中的重组 (Wang & Yang, 2006)。小麦的研究表明，*SKP1* 表达量急剧下降，可能会使细胞分裂不能正常进行，从而导致小麦花粉粒的生长发育受到影响，过早的趋于死亡。同时，*SKP1* 蛋白也会大幅度下降，大量的 SCF 复合体很难形成，泛素蛋白酶体途径受阻，导致一些细胞周期抑制蛋白降解不及时，进而影响花粉粒的活性，引起雄性不育的发生 (宋瑜龙, 2011)。本研究中香石竹 *DcSKP1* 基因在幼小的花药中表达量高，随着花药的不断发育表达量有所下降，而幼小的花药正在进行减数分裂，提示 *DcSKP1* 基因可能参与香石竹减数分裂过程。

水稻 *OmSKP1* 主要定位于细胞核，*OmSKP1* 在营养组织（叶）和生殖组织（花）中都有表达，且花中的表达水平明显高于叶片，说明 *OmSKP1* 主要在花中进行表达 (范锡麟, 2013)。小麦 *TSK1* 基因在花药、幼根以及花顶端分生组织等分生较旺盛的组织中有较强的表达，暗示该基因可能参与植物细胞分裂相关的过程 (李驰峻, 2006)。小麦在可育和不育株中，随着花药生长时期（单核期、二核期、三核期）的推后，*SKP1* 基因的相对表达量都逐步降低。但在同一个发育期，可育花药中 *SKP1* 基因的相对表达量比不育株花药中 *SKP1* 基因的相对表达量高 (宋瑜龙, 2011)。在拟南芥中，*ASK1* 基因在生殖生长和营养生长整个过程中都有持续、广泛的表达，而在有丝分裂旺盛的部位以及减数分裂部位有更高的表达量 (Porat et al., 1998)。*ASK1* 基因的表达量在减数分裂细胞周期中有波动，从细线期到粗线期出现一个峰值水平。因此，细线期到粗线期对于 *ASK1* 的功能似乎是至关重要的 (Wang & Yang, 2006)。草莓 *FaSKP1-1* 基因在植物的各个组织部位如根、叶、茎、花瓣、花柱、花托、花粉及果实中均有表达 (殷姗姗等, 2016)。本研究对香石竹 *DcSKP1* 基因表达模式进行研究，结果发现 *DcSKP1* 基因在各个组织部位都有表达，在花药中的表达量高于茎叶组织，且表达量具有显著差异。提示 *DcSKP1* 基因与花药的发育有关，可能参与香石竹减数分裂的过程。本研究为研究香石竹花粉败育的原因、减数分裂调控的信号通路和培育优异的植物新品种奠定基础。

参考文献：

CHEN C, MARCUS A, LI W, et al, 2002. The *Arabidopsis* ATK1 gene is required for spindle morphogenesis in male meiosis[J]. Development, 129(10): 2401-2409.

FAN XL, 2013. Expression and purification of *OmSKP1* with point mutations and primary analysis of protein interaction *in vitro*[D]. Changsha: Hunan Agricultural University. [范锡麟, 2013. 小粒野生稻 *OmSKP1* 的点突变蛋白表达纯化与体外互作的初步分析[D]. 长沙：湖南农业大学.]

FELDMAN RMR, CORRELL CC, KAPLAN KB, et al., 1997. A complex of cdc4p, skp1p, and cdc53p/cullin catalyzes ubiquitination of the phosphorylated cdk inhibitor sic1p[J]. Cell, 91(2): 221-230.

FUKUI Y, TANAKA Y, KUSUMI T, et al., 2003. A rationale for the shift in colour towards blue in transgenic carnation flowers expressing the flavonoid 3’, 5’-hydroxylase gene[J]. Phytochemistry, 63(1): 15-23.

HERSHKO A, CIECHANOVER A, 1998. The ubiquitin system[J]. Ann Rev Biochem, 67(1): 425-479.

HU ZL, ZOU DX, HUANG MR, et al., 2018. Identification and screening on wilt resistance of transgenic carnation seedlings[J]. Bull Sci Technol, 34(2): 62-65. [胡忠亮，邹东霞，韩正敏，等，2018. 转基因香石竹抗枯萎病品系的鉴定及筛选[J]. 科技通报，34(2)：62-65.]

KONG H, LANDHERR LL, FROHLICH MW, et al., 2010. Patterns of gene duplication in the plant SKP1 gene family in angiosperms: Evidence for multiple mechanisms of rapid gene birth[J]. Plant J, 50(5): 873-885.

LI CJ, 2006. Cloning and functional analysis of *TSK1*, a *SKP1* homologue from wheat[D]. Kunming: Chinese Academy of Sciences (Botanical Institution). [李驰峻，2006. 小麦 *SKP1* 同源基因 *TSK1* 的克隆和功能分析[D]. 昆明：中国科学院研究生院（植物研究所).]

LIU WX, PENG XZ, YUAN JG, 2002. SCF (Skp1- Cul1- F- box protein) complex and its function in cell cycle[J]. J Chin Biotechnol, 22(3): 1-3. [刘卫霞，彭小忠，袁建刚，2002. SCF (Skp1-Cul1-F-box 蛋白)复合物及其在细胞周期中的作用[J]. 中国生物工程杂志，22（3）：1-3.]

LU D, NI W, STANLEY BA, 2016. Proteomics and transcriptomics analyses of Arabidopsis floral buds uncover important functions of *ARABIDOPSIS* SKP1-LIKE1[J]. BMC Plant Biol, 16(1): 61.

MIN JH, KIM DY, SEO YW, 2012. SKP1-like-related genes interact with various F-box proteins and may form SCF complexes with Cullin–F-box proteins in wheat[J]. Mol Biol Rep, 40(2): 969-981.

NING Z, SCHULMAN BA, LANGZHOU S, et al., 2016. Structure of the Cul1-Rbx1-Skp1-F box Skp2 SCF ubiquitin ligase complex[J]. Nature, 416(6882): 703-709.

PORAT R, LU P, O'NEILL SD, 1998. *Arabidopsis* SKP1, a homologue of a cell cycle regulator gene, is predominantly expressed in meristematic cells[J]. Planta, 204(3): 345-351.

SCHULMAN BA, CARRANO AC, JEFFREY PD, et al., 2000. Insights into SCF ubiquitin ligases from the structure of the Skp1-Skp2 complex[J]. Nature, 408(6810): 381-386.

SONG YL, 2011. Cloning and expression analysis of SKP1 gene related to male sterility in wheat[D]. Yangling: Northwest A & F University.[宋瑜龙，2011. 小麦雄性不育相关基因 SKP1 的克隆与表达分析[D]. 杨凌：西北农林科技大学.]

SUN XY, WEI Y, HAN XY, et al., 2017. Prokaryotic Expression of Cucumber Skp1 in Escherichia coli and Preparation of Antiserum[J]. Acta Agric Boreal-Sin, 32(6): 73-77. [孙新艳，魏莹，韩晓玉，等，2017. 黄瓜 S 期激酶相关蛋白 Skp1 的原核表达及其多克隆抗体的制备[J]. 华北农学报，32（6）：73-77.]

TAKAHASHI N, KURODA H, KUROMORI T, et al., 2004. Expression and interaction analysis of Arabidopsis Skp1-related genes[J]. Plant Cell Physiol, 45(1): 83-91.

VIERSTRA RD, SMALLE J, 2004. The ubiquitin 26s proteasome proteolytic pathway[J]. Ann Rev Plant Biol, 55(1): 555-590.

WANG Y, WU H, LIANG G, et al., 2004. Defects in nucleolar migration and synapsis in male prophase[J]. Plant Reprod, 16(6): 273-282.
WANG Y, YANG M, 2006. The ARABIDOPSIS SKP1-LIKE1 (ASK1) protein acts predominately from leptotene to pachytene and represses homologous recombination in male meiosis[J]. Planta, 223(3): 613-617.
WU SS, 2014. Study on high temperature tolerance of transgenic carnation by PmHSP25.3[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [吴姗姗，2014. 转 PmHSP25.3 基因香石竹植株耐热性研究[D]. 武汉：华中农业大学.]
XIA JH, ZENG B, LI WY, et al., 2015. Cloning and bioinformatics analysis of self-incompatibility gene *SSK1* of wild almond in Xinjiang[J]. Chin Agric Sci Bull, 31(25): 107-112 [夏江宏，曾斌，李伟阳，等，2015. 新疆野扁桃自交不亲和基因 *SSK1* 的克隆及生物信息学分析[J]. 中国农学通报，31（25）：107-112.]
YANG M, HU Y, LODHI M, et al., 1999. The *Arabidopsis* SKP1-LIKE1 gene is essential for male meiosis and may control homologue separation[J]. Proc Natl Acad Sci Usa, 96(20): 11416-11421.
YE YP, 2014. Research progress on *ASK* genes in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiol J, 50 (6): 683-690. [叶佑丕，2014. 拟南芥 ASK 基因研究进展[J]. 植物生理学报，50（6）：683-690.]
YIN SS, LI MF, WANG H, et al., 2016. Cloning and expression analysis of *FaSKP1-1* genes in strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.)[J]. J Chin Agric Univ, 21 (12): 28-34. [殷姗姗，李茂福，王华，等，2016. 草莓 *FaSKP1-1* 基因的克隆与表达分析[J]. 中国农业大学学报，21（12）：28-34.]
YU YX, BAO MZ, 2004. Prolonging the vase life of carnation ‘Mabel’ through integrating repeated acc oxidase genes into its genome[J]. J Plant Physiol Mol Biol, 30 (5): 541-545. [余义勋，包满珠，2004. 通过转重复结构的 ACC 氧化酶基因延长香石竹的瓶插期[J]. 植物生理与分子生物学学报，30（5）：541-545.]
ZHANG FY, BAI XF, DU YG, et al., 2007. Cloning and analysis of the full length cDNA of *SKP1* gene from *Nicotiana tabacum* var. *samsun* NN and its expression in *E. coli*[J]. Acta Agron Sin, 33(4): 693-696. [张付云，白雪芳，杜昱光，等，2007. 烟草 *SKP1* 基因 cDNA 的克隆分析及原核表达[J]. 作物学报，33（4）：693-696.]
ZHANG FY, CHEN SY, ZHAO XM, et al., 2009. Construction of NtSKP1-GFP plant expression vector and subcellular location[J]. Acta Agric Boreal-Occident Sin, 18 (4): 144-148. [张付云，陈士云，赵小明，等，2009. NtSKPl-GFP 植物表达载体的构建及亚细胞定位[J]. 西北农业学报，18（4）：144-148.]
ZHAO D, YANG M, SOLAVA J, et al., 2015. The ask1 gene regulates development and interacts with the ufo gene to control floral organ identity in *Arabidopsis*[J]. Genesis, 25(3): 209-223.
ZHAO D, YANG X, QUAN L, et al., 2006. ASK1, a SKP1 homolog, is required for nuclear reorganization, presynaptic homolog juxtaposition and the proper distribution of cohesin during meiosis in *Arabidopsis*[J]. Plant Mol Biol, 62(1-2): 99-110.
ZHAO D, YU Q, CHEN M, et al., 2001. The ASK1 gene regulates B function gene expression in cooperation with UFO and LEAFY in *Arabidopsis*[J]. Development, 128(14): 2735-2746.
ZHENG HP, LI YP, 2011. The essential regulator of cellular activities—F-box protein[J]. Chem Life, 31 (5): 619-624. [郑鸿平，李逸平，2011. 调控细胞活动不可或缺的重要分子—F-box 蛋白[J]. 生命的化学，31（5）：619-624.]